

© ЗАМАЙ Г. С., КОЛОВСКАЯ О. С., ГРЕК Д. С., БАБКИН В. А., НЕВЕРОВА Н. А., КОШМАНОВА А. А., ПАЦ Ю. С.

УДК 57.054

DOI: 10.20333/2500136-2021-2-90-93

Магнитомеханическая стимуляция регенерации костной ткани

Г. С. Замай^{1,2}, О. С. Коловская^{1,2}, Д. С. Грек¹, В. А. Бабкин³, Н. А. Неверова³, А. А. Кошманова⁴, Ю. С. Пац¹

¹Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого, Красноярск 660022, Российская Федерация

²Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр» СО РАН, Красноярск 660036, Российская Федерация

³Иркутский институт химии им. А. Е. Фаворского СО РАН, Иркутск 664033, Российская Федерация

Цель исследования. Оценить способность суперпарамагнитных наночастиц, функционализированных пептидом RGD, ускорить восстановление костной ткани после поперечной остеотомии под влиянием низкочастотного переменного магнитного поля.

Материал и методы. В работе использовались суперпарамагнитные наночастицы ферроарабиногалактаны (FeAG), функционализированные пептидом RGD для адресного связывания с интегринами. Моделью для оценки способности FeAG-RGD ускорить регенерацию костной ткани стала поперечная остеотомия лучевой кости мышей ICR. Для индукции процесса регенерации костной ткани после введения частиц FeAG-RGD мышей помещали в переменное магнитное поле (50 Гц 100 Э) на 60 мин. Терапию проводили ежедневно на протяжении 5 дней.

Результаты. В работе проверялась гипотеза об ускорении регенерации костной ткани методом магнитомеханической терапии с помощью суперпарамагнитных наночастиц FeAG-RGD. Установлено, что FeAG-RGD в условиях переменного магнитного поля (50 Гц 100 Э) способны менять свою ориентацию в пространстве и, таким образом, вызывать механическое напряжение в белках клеточной мембраны – интегринах, запускающих процесс остеогенной дифференцировки. Результаты исследований показали, что 5 процедур магнитомеханической терапии приводит к полному восстановлению костной ткани в месте поперечной остеотомии, в то время как в группе контрольных животных сращения костей не наблюдается.

Заключение. Использование метода магнитомеханической терапии с помощью ферроарабиногалактанов, функционализированных адресным лигандом RGD для связывания с интегринами остеогенных клеток, является перспективной технологией регенерации костной ткани.

Ключевые слова: суперпарамагнитные наночастицы, ферроарабиногалактаны, пептид RGD, интегрин, регенерация костной ткани.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Для цитирования: Замай ГС, Коловская ОС, Грек ДС, Бабкин ВА, Неверова НА, Кошманова АА, Пац ЮС. Магнитомеханическая стимуляция регенерации костной ткани. *Сибирское медицинское обозрение*. 2021;(2):90-93. DOI: 10.20333/2500136-2021-2-90-93

Magnetomechanical stimulation of bone tissue regeneration

G. S. Zamay¹, O. S. Kolovskaya^{1,2}, D. S. Grek¹, V. A. Babkin³, N. A. Neverova³, Yu. S. Patc¹

¹Professor V. F. Voyno-Yasenetsky Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk 660022, Russian Federation

²Federal Research Center “Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences”, Krasnoyarsk 660036, Russian Federation

³A. E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry SB RAS, Irkutsk 664033, Russian Federation

The aim of the research. To assess the ability of superparamagnetic nanoparticles functionalized with the RGD peptide to accelerate bone tissue recovery after transverse osteotomy under the influence of a low-frequency alternating magnetic field.

Material and methods. We used superparamagnetic nanoparticles ferroarabinogalactans (FeAG) functionalized with the RGD peptide for targeted binding to integrins. The model for assessing the ability of FeAG-RGD to accelerate bone regeneration was the transverse osteotomy of the radius of the ICR mice. To induce the process of bone tissue regeneration after the injection of FeAG-RGD particles, mice were placed in an alternating magnetic field (50 Hz 100 Oe) for 60 min. The therapy was performed daily for 5 days.

Results. The paper tested the hypothesis about the acceleration of bone tissue regeneration by the method of magnetomechanical therapy using superparamagnetic FeAG-RGD nanoparticles. It has been established that FeAG-RGD under conditions of an alternating magnetic field (50 Hz 100 Oe) are able to change their orientation in space and, thus, cause mechanical stress in the proteins of the cell membrane – integrins, which trigger the process of osteogenic differentiation. The research results showed that 5 procedures of magnetomechanical therapy lead to complete restoration of bone tissue at the site of the transverse osteotomy, while in the group of control animals no fusion of bones is observed.

Conclusion. The use of the method of magnetomechanical therapy using ferroarabinogalactans functionalized with the targeting ligand RGD for binding to integrins of osteogenic cells is a promising technology for bone tissue regeneration.

Key words: superparamagnetic nanoparticles, ferroarabinogalactans, RGD peptide, integrins, bone tissue regeneration.

Conflict of interest. The authors declare the absence of obvious and potential conflicts of interest associated with the publication of this article.

Citation: Zamay GS, Kolovskaya OS, Grek DS, Babkin VA, Neverova NA, Patc YuS. Magnetomechanical stimulation of bone tissue regeneration. *Siberian Medical Review*. 2021; (2):90-93. DOI: 10.20333/2500136-2021-2-90-93

Введение

Возможность управления функциональным состоянием клеток-мишеней путем их воздействия на клеточные рецепторы в условиях переменного магнитного поля в последнее время стало одним из наиболее перспективных направлений в регенеративной медицине. Стимуляция мембранных механочувствительных рецепторов в зависимости от типа рецептора и величины поля способна стимулировать или подавлять такие клеточные функции, как апоптоз, сокращение, дифференциацию, миграцию, пролиферацию, секрецию [1]. Уникальными инструментами для управления клеткой с помощью механотрансдукции стали магнитные наночастицы, преимуществом которых является их дистанционное управление. Магнитная маркировка клеток магнитными наночастицами позволяет ими манипулировать, а также контролировать функции клеток путем приложения внешнего магнитного поля. Сила, которую внешнее магнитное поле оказывает на частицу, может варьировать от 10 пиконьютонов до 10 наноньютонов. Силы такого порядка сопоставимы с силами, которые клетки испытывают *in vivo* [2]. В работе исследовалась способность суперпарамагнитных наночастиц ферроарабиногалактана, функционализированных пептидом RGD, ускорять восстановление костной ткани после поперечной остеотомии под влиянием низкочастотного переменного магнитного поля.

Материал и методы

Ферроарабиногалактаны были получены в Иркутском институте химии им. А.Е. Фаворского СО РАН по методу, описанному в патенте [3]. Функционализацию ферроарабиногалактанов пептидом RGD проводили путем инкубации ферроарабиногалактанов с пептидом [4]. Поперечную остеотомию правой лучевой кости мышам ICR проводили по методу, описанному в [5]. Регенерацию костной ткани проводили путем введения наночастиц FeAG-RGD непосредственно в место поперечной остеотомии с последующим помещением животных в переменное магнитное поле (50 Гц, 100 Э) на 60 мин. Контрольным мышам в место поперечной остеотомии вводили физиологический раствор. Животных контрольной группы в магнитное поле не помещали. После 5 процедур магнитомеханической стимуляции регенерации костной ткани мышей подвергали эвтаназии, после чего проводили выделение лучевых костей и оценку их сращения.

Результаты и обсуждение

Ферроарабиногалактаны (FeAG) – суперпарамагнитные наночастицы, состоящие из маггемита (Fe_2O_3) и арабиногалактана, намагниченность насыщения которых по данным исследований оказалась достаточной для их переориентации в пространстве при напряженности магнитного поля в 100 Э (Рис. 1).

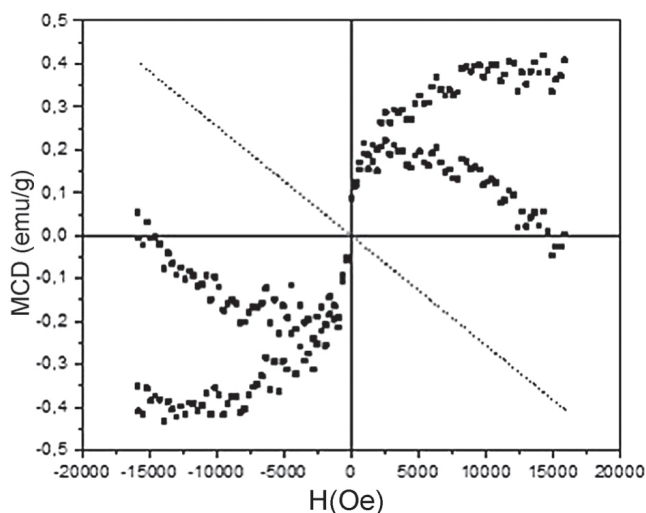


Рисунок 1. Кривая намагниченности раствора ферроарабиногалактана.

Figure 1. Curve of the magnetization of a solution of ferroarabinogalactan

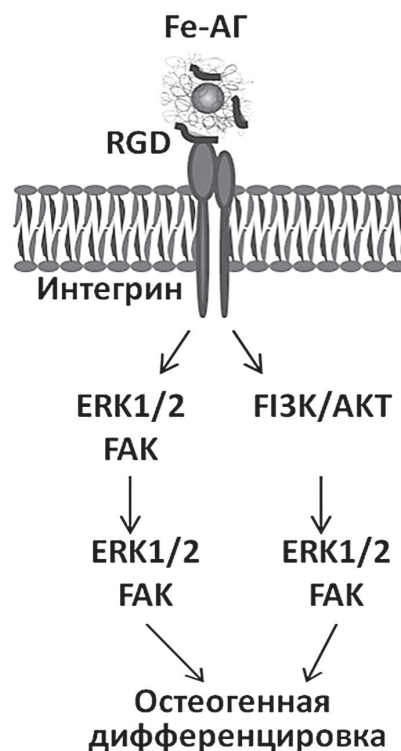


Рисунок 2. Схема взаимодействия ферроарабиногалактановой суперпарамагнитной наночастицы, функционализированной пептидом RGD, с рецептором клеточной мембраны интегрином, механическая стимуляция которого запускает процесс остеогенной дифференцировки.

Figure 2. Scheme of interaction of a ferroarabinogalactan superparamagnetic nanoparticle functionalized with the RGD peptide with the cell membrane receptor integrin, whose mechanical stimulation triggers the process of osteogenic differentiation.

Для адресного связывания с остеогенными клетками магнитные наночастицы функционализировали пептидом RGD, состоящим из аргинина, глицина и аспарагиновой кислоты. Такая последовательность аминокислот, характерная для белков межклеточного матрикса, позволяет пептиду RGD взаимодействовать с белками клеточных мембран – интегринами, играющими ключевую роль в остеогенной дифференцировке (Рис. 2).

На основании этого было выдвинуто предположение, что переменное магнитное поле, изменяющее пространственную ориентацию магнитных наночастиц FeAg, связанных через пептид RGD с интегринами, должно приводить к механическому напряжению интегринов, которое должно стать стимулом для запуска сигнального пути, приводящего к остеогенной дифференцировке. Эта гипотеза о магнитомеханической индукции процессов регенерации костной ткани путем стимуляции интегринов суперпарамагнитными наночастицами FeAg проверялась *in vivo* на модели поперечной остеотомии у мышей ICR.

В процессе эксперимента после проведения поперечной остеотомии двум животным опытной группы было проведено 5 сеансов магнитомеханической терапии ферроарабиногалактанами, функционализированными пептидом RGD, в низкочастотном переменном магнитном поле. Мышам контрольной группы после остеотомии в таком же режиме вводили физиологический раствор. Проведение манипуляций над животными сопровождалось наблюдением за их поведением, шерстным покровом и массой тела. Наблюдения свидетельствовали о том, что мышцы обеих групп на протяжении всей терапии оставались активными, имели нормальный шерстный покров и стабильную массу тела. Анализ результатов магнитомеханической стимуляции регенерации костной ткани показал, что в группе животных после лечения FeAg, функционализированными пептидом RGD, лучевые кости в месте поперечной остеотомии были полностью восстановлены. При этом в группе контрольных животных восстановления лучевых костей после поперечной остеотомии за это время не происходило, сращения переломов не наблюдалось.

Актуальность проведенного исследования, в первую очередь, связана с потребностью в более эффективном и менее травматичном способе ускорения регенерации костной ткани у пациентов с переломами, опухолями и остеопорозом, вызывающими сильные боли, потерю костной массы, деформацию

конечностей и ограничения подвижности. Именно поэтому метод ускорения восстановления костной ткани с использованием адресно воздействующих на интегрин магнитных наночастиц, описанный в работе, может иметь большие перспективы для практического применения. В наших исследованиях для регенерации костной ткани использовались ферроарабиногалактаны – суперпарамагнитные наночастицы, покрытые арабиногалактаном. Арабиногалактан – высокогидрофильный полисахарид, экстрагируемый из лиственницы сибирской, который легко биodeградирует и выводится из организма, имеет низкую полидисперсность, обладает гепатопротекторными, иммуномодулирующими и мембранотропными свойствами [6].

Заключение

Магнитомеханическая терапия с помощью суперпарамагнитных наночастиц, функционализированных адресным лигандом для связывания с остеогенными клетками, является перспективной стратегией восстановления костной ткани.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РНФ в рамках научного проекта № 19-74-00099.

Литература / Reference

1. Tavi P, Laine M, Weckstrom M, Ruskoaho H. Cardiac mechanotransduction: from sensing to disease and treatment. *Trends in Pharmacological Science*. 2001;(22):254-260.
2. Orr AW, Helmke BP, Blackman BR, Schwartz MA. Mechanisms of mechanotransduction. *Developmental Cell*. 2006;(10):11-20.
3. Josephson L, Groman EV, Jung C, Lewis JM. Targeting of Therapeutic Agents Using Polysaccharides. U.S. Patent 5,336,506, 9 August 1994.
4. Green DW, Leveque I, Walsh D, Howard D, Yang X, Partridge K, Clarke NMP, Oreffo ROC. Biomaterialised polysaccharide capsules for encapsulation, organization and delivery of human cells types and growth factors. *Advanced Functional Materials*. 2005;(15):917.
5. Li S, Wei C, Lv Y. Preparation and Application of Magnetic Responsive Materials in Bone Tissue Engineering. *Current Stem Cell Research & Therapy*. 2020; 15(5):428-440.
6. Pinhassi RI, Assaraf YG, Farber S, Stark M, Ickowicz D, Drori S, Domb AJ, Livney YD. Arabinogalactan-Folic Acid-Drug Conjugate for Targeted Delivery and Target-Activated Release of Anticancer Drugs to Folate Receptor-Overexpressing Cells. *Biomacromolecules*. 2010;(11): 294-303.

Сведения об авторах

Замай Галина Сергеевна, старший научный сотрудник, Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр» СО РАН; адрес: Российская Федерация, 660036, г. Красноярск, Академгородок, стр.50; тел.: +7(391)2201893; e-mail: galina.zamay@gmail.com

Коловская Ольга Сергеевна, старший научный сотрудник, Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; Федеральный исследовательский центр «Красноярский научный центр» СО РАН; адрес: Российская Федерация, 660036, г. Красноярск, Академгородок, стр.50; тел.: +7(391)2201893; e-mail: olga.kolovskaya@gmail.com

Грек Даниил Сергеевич, студент, Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; тел.: +7(391)2201893; e-mail: daniilgrek@gmail.com

Бабкин Василий Анатольевич, заведующий лабораторией, Иркутский институт химии им. А. Е. Фаворского СО РАН; адрес: Российская Федерация, 664033, Иркутск, Фаворского, д. 1; тел.: +7(3952) 51-14-27; e-mail: babkin@irioch.irk.ru

Неверова Надежда Анатольевна, научный сотрудник, Иркутский институт химии им. А. Е. Фаворского СО РАН; адрес: Российская Федерация, 664033, Иркутск, Фаворского, д. 1; тел.: +7(3952) 51-14-27; e-mail: nadya_neverova@irioch.irk.ru

Кошманова Анастасия Александровна, студент, Сибирский Федеральный университет; Адрес: пр. Свободный, 79, Российская Федерация, г. Красноярск, 660022; Phone: +7(391)2201893; e-mail: nastya123k123@yandex.ru

Пац Юрий Степанович, профессор, Красноярский государственный медицинский университет имени профессора В. Ф. Войно-Ясенецкого; адрес: Российская Федерация, 660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1; тел.: +7(391)2201893; e-mail: uis_70@mail.ru

Author information

Galina S. Zamay, Senior Researcher, Professor V. F. Voyno-YasenetskyKrasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Federal Research Center "Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences"; Address: 50, Akademgorodok, Krasnoyarsk, Russian Federation 660036; Phone: +7(391)2201893; e-mail: galina.zamay@gmail.com

Olga S. Kolovskaya, Senior Researcher, Professor V. F. Voyno-YasenetskyKrasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Federal Research Center "Krasnoyarsk Science Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences"; Address: 50, Akademgorodok, Krasnoyarsk, Russian Federation 660036; Phone: +7(391)2201893; e-mail: olga.kolovskaya@gmail.com

Daniil S. Grek, student, Professor V. F. Voyno-YasenetskyKrasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone: +7(391)2201893; e-mail: daniilgrek@gmail.com

Vasily A. Babkin, Head of laboratory, A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry SB RAS; Address: 1, Favorsky, Irkutsk, Russian Federation, 664033; Phone: +7(395)2511427; e-mail: babkin@irioch.irk.ru

Nadegda A. Neverova, Researcher, A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry SB RAS; Address: 1, Favorsky, Irkutsk, Russian Federation, 664033; Phone: +7(395)2511427; e-mail: nadya_neverova@irioch.irk.ru

Anastasia A. Koshmanova, student, Siberian Federal University; Address: 79, Svobodny pr, Krasnoyarsk, Russian Federation 660041; Phone: +7(391)2201893; e-mail: nastya123k123@yandex.ru

Yuri S. Patc, professor, Professor V. F. Voyno-YasenetskyKrasnoyarsk State Medical University; Address: 1, Partizan Zheleznyak Str., Krasnoyarsk, Russian Federation 660022; Phone:+7(391)2201893; e-mail: uis_70@mail.ru

Дата поступления: 16.02.2021
Дата рецензирования: 18.03.2021
Принята к печати: 31.03.2021
Received 16 February 2021
Revision Received 18 March 2021
Accepted 31 March 2021